

ESTUDOS TOXICOLÓGICOS DO OXICLORETO DE COBRE PARA TILÁPIA VERMELHA (*OREOCHROMIS SP.*)

M.V. Boock^{1,2} & J.G. Machado Neto²

¹Bolsista da CAPES; ²Depto. de Fitossanidade, FCAV/UNESP, Rod. Carlos Tonanni, km 5, CEP 14870-000, Jaboticabal, SP, Brasil.

RESUMO

O presente estudo foi conduzido com o objetivo de determinar a toxicidade aguda, o risco de intoxicação devido à contaminação ambiental pelo fungicida oxiclreto de cobre e a bioconcentração do cátion Cu^{+2} na tilápia vermelha (*Oreochromis sp.*). No teste de toxicidade aguda, os alevinos de tilápia com aproximadamente dois meses de idade foram expostos à concentrações crescentes do fungicida oxiclreto de cobre por 96 horas. Os riscos de intoxicação foram determinados através da comparação entre a CL_{50} -96 horas calculada e a Concentração Ambiental Estimada (CAE) do fungicida. No teste de bioconcentração, os peixes foram expostos às concentrações de 0,02 e 0,0769 mg/L do cátion cobre (Cu^{+2}) por 192 horas e em seguida transferidos para água livre de cobre por 144 horas visando a observação da capacidade de depuração deste metal pelos animais. A CL_{50} obtida foi de 129,21 mg de oxiclreto de cobre/L, correspondendo a 76,91mg de cobre metálico/L. No teste de bioconcentração observou-se o acúmulo de cobre em ambas as concentrações testadas, porém o metal só foi totalmente eliminado pelos peixes expostos a menor concentração (0,02mg/L). Os riscos de intoxicação devido à contaminação ambiental para a tilápia vermelha foram considerados baixos nas condições estudadas.

PALAVRAS-CHAVE: Tilápia vermelha, *Oreochromis sp.*, toxicidade aguda, oxiclreto de cobre, bioconcentração, Concentração Ambiental Estimada (CAE).

ABSTRACT

TOXICOLOGICAL STUDIES OF COPPER OXYCHLORIDE FOR THE RED TILAPIA (*OREOCHROMIS SP.*). The present study was carried out with the objective of determining the acute toxicity as well as the risk of intoxication due to environmental contamination by copper oxychloride fungicide and the copper bioconcentration for the red tilapia (*Oreochromis sp.*). In the test of acute toxicity, the tilapia fingerlings with approximately two months of age were exposed to growing concentrations of the fungicide copper oxychloride for 96 hours. The risks of contamination were calculated through the comparison among CL_{50} -96 hours calculated and the Estimated Environmental Concentration (EEC) of the fungicide. In the bioconcentration test, the fishes were exposed to the concentrations of 0.0200 and 0.0769 mg/L of copper for 192 hours and after transferred to clean water for 144 hours for the observation of the capacity of purification of this metal by the fishes. The CL_{50} calculated was 129.21 mg/L of copper oxychloride, corresponding to 76.91mg/L of metallic copper. In the bioconcentration test the copper accumulation was observed in both tested concentrations, however the metal was only eliminated totally by the the smallest concentration (0.02 mg/L) exposed fish. The risks of contamination of the red tilapia were considered low in the conditions of this study.

KEY WORDS: Saint Peter's fish, *Oreochromis sp.*, acute toxicity, copper oxychloride, bioconcentration.

INTRODUÇÃO

A utilização de agrotóxicos indiscutivelmente tem contribuído para o aumento da produção agropecuária mundial. Entretanto, seu uso indiscriminado, principalmente após a segunda guerra, tem causado grande impacto negativo ao meio ambiente (RAND & PETROCELLI, 1985).

Dentre os principais problemas ocasionados pelo

uso intensivo de agrotóxicos destacam-se os efeitos adversos sobre organismos não-alvo, bioconcentração e biomagnificação nas cadeias biológicas (MURRY, 1988).

A água constitui-se num dos elementos fundamentais para a sobrevivência dos organismos nos ecossistemas. Se a mesma apresentar-se contaminada por agrotóxicos, pode-se considerar que todos os demais componentes bióticos e abióticos do sistema também estarão (MACHADO NETO, 1991).

A contaminação do ambiente aquático por agrotóxicos pode dar-se por diversas vias, sendo as mais comuns a aplicação direta visando o controle de insetos e plantas aquáticas; a deriva de pulverizações; o carreamento de partículas de solo contaminado; a lixiviação e a limpeza de embalagens e equipamentos utilizados nas aplicações (BAPTISTA, 1988).

Dentre os diversos agrotóxicos, os fungicidas cúpricos são amplamente utilizados, representando risco potencial de contaminação ambiental.

O fungicida oxiclreto de cobre é recomendado para o controle de antracnose, requeima, ferrugem, míldio e outras doenças de diversas culturas, tais como o algodão, a batata, o café, a cana, os citrus, o feijão e o tomate (ANDREI, 1993).

Além da toxicidade aguda ocasionada pela contaminação por esta substância, os organismos aquáticos podem sofrer efeitos crônicos, quando expostos por prolongados períodos de tempo a concentrações sub-letais. Este problema é agravado devido a tendência dos metais pesados, como o cobre, acumularem-se no sedimento, onde poderão ser translocados através dos diversos elos da cadeia biológica, ocasionando o processo de bioconcentração.

Os efeitos dos agrotóxicos sobre os organismos aquáticos podem ser estimados e monitorados através de testes de toxicidade conduzidos em laboratório (RAND & PETROCELLI, 1985).

A tilápia (*Oreochromis* sp.) foi introduzida no Brasil, no Ceará, pelo Departamento Nacional de Obras Contra a Seca (D.N.O.C.S) em Pentecoste, no ano de 1971, procedente da Costa do Marfim, África (CASTAGNOLLI, 1992). Por ser uma espécie rústica e precoce, é muito criada em açudes e reservatórios sujeitos ao aporte de agrotóxicos utilizados em atividades agropecuárias nas regiões nordeste, sul e sudeste.

Em estudos de contaminação ambiental por agrotóxicos, faz-se necessária a determinação da Concentração Ambiental Estimada (CAE), que segundo SETAC (1994) e SOLOMON (1995), depende diretamente da quantidade de produto que atinge o ecossistema aquático após o processo de degradação e carreamento para fora do local de aplicação. KOKTA & ROTHERT (1992) propuseram procedimentos em etapas para a avaliação do risco de intoxicação de organismos "não-alvo", devido a contaminação ambiental com agrotóxicos, tomando-se por base a CAE. Este procedimento foi adaptado para a determinação de riscos de contaminação ambiental para organismos aquáticos por FERREIRA (1998) e por MIYAZAKI (1998). Estes autores avaliaram os riscos de intoxicação de peixes e microcrustáceos decorrentes da contaminação do ambiente aquático devido ao uso de inseticidas e herbicidas.

O presente estudo teve por objetivos:

- estimar a toxicidade aguda (CL₅₀-96h) do fungicida oxiclreto de cobre para a tilápia vermelha (*Oreochromis* sp.);
- determinar a bioconcentração do íon cobre em tilápia vermelha;
- verificar se o limite máximo do íon cobre permitido pelo CONAMA apresenta riscos de bioconcentração para a espécie estudada;
- estimar os riscos de intoxicação da tilápia vermelha devido à contaminação pelo fungicida oxiclreto de cobre.

MATERIAL E MÉTODOS

Todos os materiais e metodologia seguiram as recomendações estabelecidas pela APHA (1991), MURTY (1988) e RAND & PETROCELLI (1985).

O experimento foi conduzido na sala de bioensaios do Laboratório de Ecotoxicologia do Departamento de Fitossanidade da FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal.

Previamente à realização do experimento, os alevinos do híbrido vermelho de tilápia (*Oreochromis* sp.) foram mantidos em observação em tanques de cimento-amianto por um período de sete dias, visando a detecção de parasitas, doenças e recuperação do estresse do transporte. A alimentação durante este período consistiu no fornecimento de ração peletizada triturada, com 23% de proteína bruta, totalizando 3% da biomassa do tanque (CASTAGNOLLI, 1992).

Nos testes foi utilizada a água mole reconstituída (APHA, 1991) com dureza de 20 a 60 ppm; pH variando entre 7±1; teor mínimo de 40% de saturação de oxigênio. A temperatura foi mantida entre 24±1°C em uma sala climatizada por meio de um condicionador de ar. O fotoperíodo utilizado foi de 12 horas de claridade por 12 horas de escuro. O teor de amônia não ionizada (NH₃) na água foi quantificado e permaneceu sempre abaixo de 20 µg / litro.

O produto utilizado foi o fungicida CUPRA 500®, fabricado pela Hokko do Brasil S.A., contendo 840 gramas de oxiclreto de cobre, correspondendo a 500 gramas de cobre metálico por quilograma de produto comercial.

Foi realizado um teste preliminar para determinação das concentrações do produto no teste definitivo (APHA, 1991).

No teste definitivo os animais não receberam alimentação durante as 96 horas de exposição sem troca de água, caracterizando o teste como estático. Os animais mortos foram contados e retirados diariamente e fixados em álcool 70%, para posterior aferição da quantidade de cobre acumulado durante a exposição aguda. A tomada dos dados limnológicos (temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade elé-

trica), a exemplo do teste preliminar, foi realizada no início e ao final (0 e 96 horas) do teste.

Utilizou-se o método estatístico “Trimed Spearman-Kärber” (HAMILTON *et al.*, 1977) para o cálculo da CL_{50} -96h. Todos os cálculos foram realizados através do programa computacional estatístico “LC₅₀ Programs JSPear Test”.

Para a construção das curvas de mortalidade no intervalo de 96 horas, foram utilizados os valores percentuais médios de mortalidade. A equação que melhor define o ajustamento da curva seguiu o seguinte modelo:

$y = a + (b-a) / (1 + \exp((c-x) / d))$, onde a; b; c; d são constantes e “exp” é o logaritmo na base natural.

Para os ajustes das curvas, construção dos gráficos e cálculos dos coeficientes de correlação (R^2) foi utilizado o programa “Graphpad-Prism™”.

No teste de bioconcentração todos os procedimentos seguiram as recomendações do IBAMA (1987). Foram preparados dois controles para cada concentração testada do fungicida: um denominado biológico, contendo água de diluição com os organismos teste e um apenas com água de diluição e determinada concentração de oxicleto de cobre para a avaliação da degradação do produto. O teste também foi realizado em sistema estático. Os recipientes teste foram aquários de vidro com 40 litros de capacidade, contendo 30 litros de solução teste e dotados de aeração promovida por pedras porosas conectadas a bombas de aeração através de mangueiras de silicone. Foram utilizados 30 animais de peso médio igual a 0,5 gramas por aquário, de maneira a não exceder a densidade máxima de 1,0 grama por litro d'água.

Durante a execução do teste os animais foram alimentados diariamente com alimento seco (ração para peixes ornamentais Tetramin®) *ad libitum*, de maneira a não haver restos que viessem a deteriorar a qualidade da água. Os parâmetros limnológicos (temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica) foram aferidos a cada 24 horas.

O período de realização do teste nestas condições não deve exceder 8 dias (IBAMA, 1987). Após esta fase, os animais foram transferidos para novos recipientes com apenas água de diluição, e mantidos por 7 dias, para a avaliação da depuração do cobre. Em intervalos de 48 horas, durante a execução da fase de bioconcentração, foram retiradas amostras de peixe para monitorar o acúmulo do cátion Cu^{+2} . Os peixes foram conservados em álcool 70%. Posteriormente estas amostras foram secas em estufa de circulação de ar forçada na temperatura de 60° C até atingirem peso constante. Após este procedimento as amostras foram moídas finamente em cadinho e digeridas quimicamente com ácidos nítrico e perclórico. As amostras digeridas foram diluídas em água destilada para a leitura das concentrações do cátion Cu^{+2} em um

espectrofotômetro de absorção atômica.

As concentrações utilizadas foram de 0,02 mg de cobre metálico, por litro d'água, (limite máximo permitido pela resolução nº20 do CONAMA, de 18/6/1986), e de 0,0769 mg de cobre metálico por litro d'água correspondendo a 1/1000 da CL_{50} calculada para a espécie (IBAMA, 1987). Para cada concentração foram utilizadas três repetições e mais um grupo controle contendo apenas água de diluição.

Os riscos de intoxicação devido a contaminação da água com oxicleto de cobre foram estimados de acordo com o procedimento proposto por KOKTA & ROTHERT (1992) e adaptado para organismos aquáticos (FERREIRA, 1999; MIYAZAKI, 1999). Assim, a CL_{50} -96h determinada para a tilápia vermelha (*Oreochromis* sp.) foi comparada com a Concentração Ambiental Estimada (CAE) de oxicleto de cobre.

Segundo o procedimento proposto por KOKTA & ROTHERT (1992), para estimar a CAE, considera-se que:

1) o produto estudado (oxicleto de cobre) esteja uniformemente distribuído no espelho d'água do reservatório de um hectare (10.000 m²) de área e com diferentes profundidades, consideradas 1,5 e 2,0 metros no presente estudo;

2) a densidade média da água de 1,0 g/cm³;

3) a quantidade do produto estudado (oxicleto de cobre) aplicada na superfície do espelho d'água do reservatório seja equivalente às diluições de 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125% da maior (4,0 kg) e da menor dose (2,0 kg) de oxicleto de cobre recomendadas por ANDREI (1993) para as culturas agrícolas de café (4,0 Kg/ha) e de amendoim, feijão e ervilha (2,0 Kg/ha);

4) o cálculo do volume dos supostos reservatórios com 1,5 e 2,0 m de profundidade, bem como as consequentes concentrações do produto aplicado nas diluições acima mencionadas.

Para a classificação do risco de intoxicação devido a contaminação ambiental com o oxicleto de cobre, utilizou-se o seguinte critério proposto por KOKTA & ROTHERT (1992):

1) se a $CL_{50} < 10 \times CAE$, há risco potencial de intoxicação ambiental da espécie;

2) se $10 \times CAE < CL_{50} < 100 \times CAE$, há risco moderado de intoxicação ambiental da espécie;

3) se a $CL_{50} > 100 \times CAE$, há baixo risco de intoxicação ambiental da espécie.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A CL_{50} -96h foi de 129,21 mg de oxicleto de cobre por litro (Fig. 1), correspondendo a 76,91 mg de cobre metálico por litro. Este valor é duas vezes superior ao encontrado por SEDDEK (1990), para a tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), com 31,9 mg de sulfato de cobre correspondendo a 7,98 mg por litro de cobre

metálico. SOMSIRI (1982), também estudando *O. niloticus*, calculou as CL_{50} de 73,40; 63,92 e 58,30 mg por litro de cobre as 24, 48 e 72 horas respectivamente, valores estes, ainda inferiores quando comparados ao do presente trabalho. Com relação a outras espécies, esta diferença é ainda maior. WURTS & PERCHBACHER (1994) determinaram a CL_{50} -48h de 28 mg de sulfato de cobre por litro para o Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*). MCKIM & BENOIT (1971), estudando a truta (*Salvelinus fontinalis*), estimaram valores de CL_{50} entre 0,9 e 1,10 mg/L do cátion cobre para animais de diferentes pesos. Valores semelhantes a estes (0,30-1,0 mg/L) foram observados por ALAM & MAUGHAM (1995) para a carpa (*Cyprinus carpio*). JOHNSON & FINLEY (1980) e THOMPSON *et al.* (1980) determinaram, respectivamente, as CL_{50} -96h de 0,89 e 1,00 mg/L para a espécie *Lepomis macrochirus*. JOHNSON & FINLEY (1980) também determinaram a CL_{50} -96h de 0,84 mg/L para *Pimephales promelas*. BENNETT *et al.* (1952), estudando a toxicidade aguda de cobre para a mesma espécie, determinaram a CL_{50} -96h de 0,25mg/L. Tais diferenças podem ser explicadas pela sensibilidade diferenciada de cada organismo ao íon cobre.

O aumento da secreção de muco das brânquias parece ser um dos mecanismos de defesa de diversas espécies contra a intoxicação por metais pesados. Este fato já foi observado por vários autores dentre os quais destacam-se SELLERS *et al.* (1975) que estudaram os efeitos subletais do cobre e zinco em truta (*Salmo gairdneri*) e HANDY *et al.* (1989) que pesquisaram os efeitos do alumínio e zinco em truta arco-íris. No presente trabalho verificou-se uma grande quantidade de oxicleto de cobre (de coloração verde clara) envolvida pelo muco produzido pelas tilápias vermelhas e que depositava-se no fundo dos recipientes.

No teste de toxicidade aguda, houve acúmulo de cobre nas 96 horas de exposição (Fig.2). Verificou-se maior acúmulo de cobre nos peixes expostos às menores concentrações. Uma provável explicação para este fato seria a maior formação de muco nos filamentos branquiais das tilápias vermelhas e a maior imobilização do cobre, resultando em menor absorção no corpo dos animais sobreviventes.

Nos testes de bioconcentração, concentrações de cobre muito inferiores a CL_{50} calculada para esta espécie (1/100 da CL_{50}) ocasionaram mortalidade em animais expostos por um período superior a 96 horas. Esta constatação ilustra bem o fato de que a simples determinação da CL_{50} -96h não representa por si só o único parâmetro a ser analisado em estudos de contaminação com este fungicida.

Na Figura 3, verifica-se que houve acúmulo de cobre nos animais expostos a ambas as concentrações testadas. Isto torna evidente o fato de que, mesmo concentrações muito inferiores à CL_{50} calculada para a tilápia vermelha podem representar risco potencial

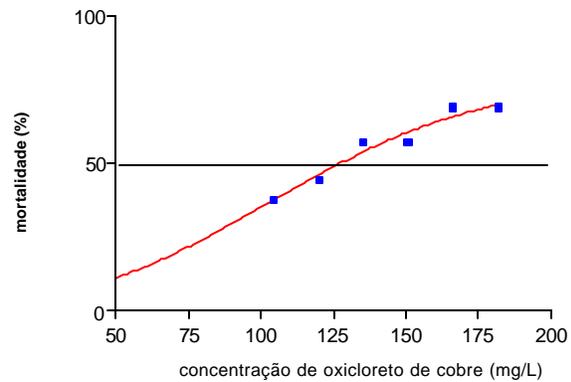


Fig.1 - Porcentagens médias de mortalidade de tilápia vermelha no teste definitivo de toxicidade aguda de oxicleto de cobre.

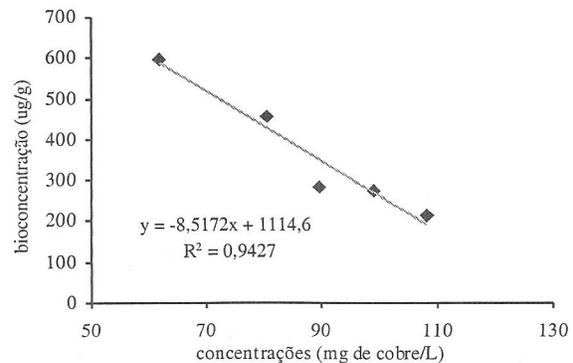


Fig.2 - Valores de Cobre acumulado ($\mu\text{g/g}$) em tilápia vermelha durante o teste de toxicidade aguda de oxicleto de cobre.

ao meio ambiente. Sendo uma espécie difundida por praticamente todo o território brasileiro, a tilápia é freqüentemente criada em áreas próximas à grandes culturas anuais e perenes nas quais o oxicleto é aplicado, como o feijão ou o café (ANDREI, 1993). Nestas culturas são necessárias aplicações periódicas de fungicidas a base de cobre para o controle de diversas doenças. Estes produtos são freqüentemente carregados ou infiltrados pela água da chuva no solo, até atingir os mananciais utilizados para a piscicultura.

Dentre os autores que estudaram a bioconcentração de cobre em organismos aquáticos, destacam-se MAZON (1997) que estudou o curimatá (*Prochilodus scrofa*) e LOMBARDI (1999) que trabalhou com o camarão da Malásia (*Macrobrachium rosenbergii*). MAZON (1997) obteve os valores de $92,40 \pm 12,18 \mu\text{g/g}$ nos rins, $584,50 \pm 82,51 \mu\text{g/g}$, no fígado, $22,81 \pm 2,40 \mu\text{g/g}$, nas brânquias e $196,89 \pm 21,56 \mu\text{g/g}$ nos intestinos dos animais expostos por 96 horas à concentração de 0,29 mg.L⁻¹ do íon cobre. LOMBARDI (1999), após o mesmo

Tabela 1 - Relação entre as concentrações ambientais estimadas (CAE) e risco da contaminação ambiental por oxicleto de cobre para tilápia vermelha nas alíquotas de 100, 50, 25, 12,5, 6,25 e 3,125% da menor dose recomendada para as culturas agrícolas (2,0 kg do produto comercial/ha).

Porcentagem da dose	1,5 m de profundidade			2,0 m de profundidade			
	CAE (mg/L)	CL ₅₀ (mg/L)	Risco de contaminação	Porcentagem da dose	CAE (mg/L)	CL ₅₀ (mg/L)	Risco de contaminação
100%	0,112	129,3	Baixo	100%	0,084	129,3	Baixo
50%	0,056	129,3	Baixo	50%	0,042	129,3	Baixo
25%	0,028	129,3	Baixo	25%	0,021	129,3	Baixo
12,5%	0,014	129,3	Baixo	12,5%	0,011	129,3	Baixo
6,25%	0,007	129,3	Baixo	6,25%	0,005	129,3	Baixo
3,125%	0,004	129,3	Baixo	3,125%	0,003	129,3	Baixo

Tabela 2 - Relação entre as concentrações ambientais estimadas (CAE) e risco da contaminação ambiental por oxicleto de cobre para tilápia vermelha nas alíquotas de 100, 50, 25, 12,5, 6,25 e 3,125% da maior dose recomendada para as culturas agrícolas (4,0 kg do produto /ha).

Porcentagem da dose	Profundidade de 1,5 m			Profundidade de 2,0 m			
	CAE (mg/L)	CL ₅₀ (mg/L)	Risco de contaminação	Porcentagem da dose	CAE (mg/L)	CL ₅₀ (mg/L)	Risco de contaminação
100%	0,224	129,3	Baixo	100%	0,168	129,3	Baixo
50%	0,112	129,3	Baixo	50%	0,084	129,3	Baixo
25%	0,056	129,3	Baixo	25%	0,042	129,3	Baixo
12,5%	0,028	129,3	Baixo	12,5%	0,021	129,3	Baixo
6,25%	0,014	129,3	Baixo	6,25%	0,011	129,3	Baixo
3,125%	0,007	129,3	Baixo	3,125%	0,005	129,3	Baixo

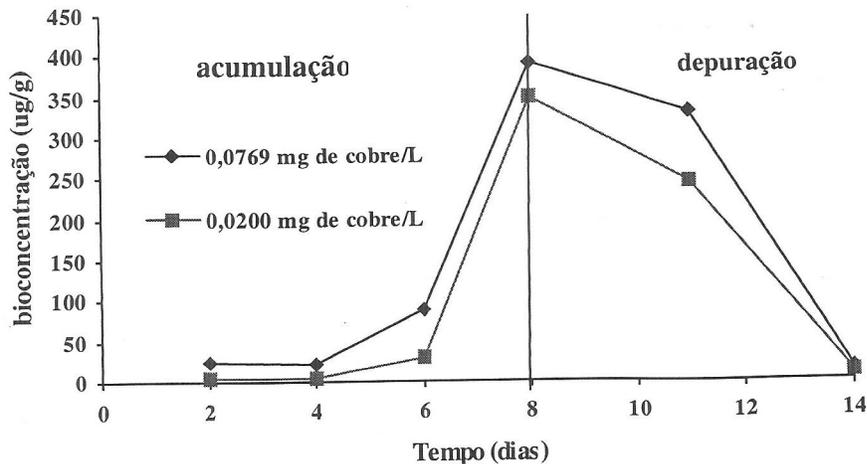


Fig. 3 - Bioconcentração e depuração de cobre em tilápia vermelha.

período de exposição (96h), observou valores entre 0,05 e 300µg/g de cobre acumulado em pós-larvas de *Macrobrachium rosenbergii* expostas a concentrações que variaram de 0,05 a 0,4 mg.L⁻¹. Os teores de cobre acumulado nos animais estudados por estes autores foram proporcionalmente semelhantes aos obtidos para a tilápia vermelha no presente trabalho.

PELGROM *et al.* (1995) também observaram o acúmulo de cobre no intestino de tilápia mossambica

(*O. mossambicus*). Entretanto, LAURÉN & McDONALD (1987) verificaram que para a truta arco-íris (*Salmo gairdneri*), o cobre aparentemente só se acumula em tecido muscular após excedida a capacidade de armazenamento do fígado.

A resolução nº 20 do CONAMA estabelece a concentração de 0,02 mg/L de cobre como sendo o limite máximo permitido nas águas do Estado de São Paulo. Todavia, no presente trabalho observou-se o acúmulo

deste metal pesado nos animais expostos à referida concentração. Os resultados obtidos por MAZON (1997) e LOMBARDI (1999) corroboram esta constatação, reforçando a idéia de que o limite ditado pelo CONAMA não é totalmente seguro.

Na fase de depuração verifica-se a eliminação quase que completa do cátion Cu^{+2} (Fig. 3) pelas tilápias. Este fato sugere a importância de futuros estudos visando a determinação mais precisa do tempo necessário para a total depuração do cobre.

Os riscos de contaminação de corpos d'água destinados à criação de tilápias vermelhas foram baixos nas duas doses de oxiclreto de cobre e também nas diferentes profundidades consideradas (Tabelas 1 e 2). Em termos práticos, isto significa que os riscos de contaminação seriam mínimos se 100% da maior dose recomendada do produto para uma cultura agrícola atingisse um reservatório de criação de tilápias.

CONCLUSÕES

Nas condições em que foi conduzido o presente estudo, pode-se concluir que:

- A tilápia vermelha acumula cobre tanto em exposições agudas (96 horas), quanto em exposições crônicas (192 horas) ao fungicida oxiclreto de cobre;
- Quando exposta a concentração de 0,129 mg/L, a tilápia vermelha não eliminou totalmente o cobre acumulado após 192 horas de exposição;
- Os riscos de intoxicação da tilápia vermelha devido à contaminação da água com as doses recomendadas de oxiclreto de cobre classificam-se como baixos;
- O limite de concentração de cobre na água estipulado pelo CONAMA não é totalmente seguro para a tilápia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALAM, M.K. & MAUGHAN, O.E. Acute toxicity of heavy metals to common carp (*Cyprinus carpio*). *J. Environ. Sci. Health Part A: Environ. Sci. Eng. Toxic. Hazard. Subst. Control.*, v.A30, n.8, p.1807-1816, 1995.
- ANDREI, E. (Ed.) *Compêndio de agrotóxicos agrícolas*. 4.ed. São Paulo: p.130-131, 1993.
- APHA. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 17.ed. Washington, D.C. p.81-143, 1991.
- BAPTISTA, G.C. Introdução e ocorrência de defensivos agrícolas no meio ambiente. In: BAPTISTA, G.C. *Curso de defensivos agrícolas, inseticidas e acaricidas* - módulo 4. Brasília, MEC/ABEAS, 1988, 17p.
- BENNETT, B.M. Estimation of LD_{50} by moving averages. *J. Hyg.* V.50, p. 157-164, 1952.
- CASTAGNOLLI, N. *Piscicultura de água doce*. FCAV - FUNEP, p.81-86, 1992.
- FERREIRA, A.C. Toxicidade aguda e risco de contaminação ambiental de inseticidas para peixes (*Poecilia reticulata*) e microcrustáceos (*Daphnia magna*). Jaboticabal, 1998. 57p. [Monografia (Graduação) em Agronomia - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista - UNESP].
- HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, V. Trimed Spearman-Karber method for estimating medial lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environ. Sci. Technol.*, v.7, p.714-719, 1977.
- HANDY, R.D.; EDDY, F.B.; ROMAIN, G. In vitro evidence for the ionoregulatory role of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquatic Toxicology*, v.27, p.1-14, 1989.
- IBAMA. *Avaliação da toxicidade aguda para peixes*. In: Manual de testes para avaliação da ecotoxicidade de agentes químicos. Brasília 128p. 1987.
- JOHNSON, W.W. & FINLEY, M.T. *Handbook of acute toxicity of chemicals to fish and aquatic invertebrates*. Washington, D.C.: U.S. Fish Wildlife Service. Res. Publ., n.137, 1980, 89p.
- KOKTA, C. & ROTHERT, H. A hazard risk assessment scheme for evaluating effects on earthworms: the approach in the Federal Republic of Germany. In: GREIG-SMITH, P.W. et al. *Ecotoxicology of earthworms*. New castle: Intercept., 1992. p.169-184.
- LAURÉN, D.J. & MCDONALD, D.G. Acclimation to copper by rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Biochemistry Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, v.44, p.105-111, 1987.
- LOMBARDI, J.V. Toxicidade aguda de agrotóxicos para o camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii* De Man (Decápoda, Palemonidae). Rio Claro, 1999. 110p. [Tese (Doutorado) - Departamento de Zoologia, UNESP - Rio Claro].
- MACHADO NETO, J.G. *Ecotoxicologia de agrotóxicos*. FCAV - FUNEP, 49p., 1991.
- MAZON, A.F. Efeitos do íon cobre sobre o curimatá, *Prochilodus scrofa* (STEINDACHNER, 1881). São Carlos, 1997. 160p. [Dissertação (Mestrado) - Centro de ciências biológicas e da saúde da Univ. Fed. de São Carlos].
- Mc KIM, J.M. & BENOIT, D.A. Effects of long term exposure to copper on survival reproduction and growth of brook trout, *Salvelinus fontinalis*. *J. Fish. Res. Board Can.*, v.27, p.652-655, 1971.
- MIZAZAKI, D.M.Y. Toxicidade aguda e risco de intoxicação ambiental de triclorfon, paration-metilico e glifosato para alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum*) e tambacu (*Colossoma macropomum* X *Piaractus mesopotamicus*). Jaboticabal, 1998. 67p. [Monografia (Graduação) em Agronomia - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista - UNESP].
- MURTY, A. S. *Toxicity of pesticide to fish*. CRC Press, v.1, 129p., 1988.
- MURTY, A. S. *Toxicity of pesticide to fish*. CRC Press, v.2, 165p., 1988.
- PELGROM, S. M. G. J.; LAMERS, L. P. M.; LOCK, R. A. C.; BALM, P.H. M.; WENDELAAR BONGA, S.E. Interactions between copper and cadmium modify metal organ distribution in mature tilapia. *Environ Pollution*, v.90, n.3, p.415-423, 1995.
- RAND, G.M. & PETROCELLI, S.R. *Fundamentals of aquatic*

- toxicology*. Washington, D.C. RAND, G.M. & PETROCELLI, S.R. (Eds.). 665p. 1985.
- SEDEK, A. Acute toxicity studies of the molluscicide copper sulfate (CuSO_4) on some Nile fish, *Assiut Vet. Med. J.*, v.23, n.45, p.166-175, 1990.
- SELLERS, C.M.; HEATH, A.G.; BASS, M.L. The effect of sublethal concentrations of copper and zinc on ventilatory activity, blood oxygen and pH in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Water Res.*, v.9, p.401-408, 1975.
- SETAC (Society of Environmental Toxicology and Chemistry) *Final report: aquatic risk assessment and mitigation*. Dialogue Group, 1994. 220p.
- SOLOMON, K.R. A framework for ecotoxicological risk assessment for agrochemicals. Center for Toxicology University of Guelph. Guelph: *Draft report*, 27p., 1995.
- SOMSIRI, C. Acute toxicity of mercury, copper and zinc to Nile tilapia, *Thai Fish. Gaz.*, v.35, n.3, p.313-318, 1982.
- THOMPSON, K.W.; HENDRIKS, A.C.; CAIRN JR, J. Acute toxicity of zinc and copper singly and in combination to the Bluegill, *Lepomis macrochirus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, v.1, p.122-129, 1980.
- WURTS, W.A. & PERSCHBACHER, W. Effects of bicarbonate alkalinity and calcium on the acute toxicity of copper juvenile channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, v.125, p. 73-79, 1994.

Recebido para publicação em 26/1/00